



ORIGINAL ARTICLE / ARTIGO ORIGINAL

PERFIL DE SUSCEPTIBILIDADE DE ISOLADOS CLÍNICOS ODONTOLÓGICOS DO GÊNERO *STAPHYLOCOCCUS* A ANTISSEPTICOS BUCAIS E ANTIMICROBIANOS

Fernanda Lima Fernandes^{1*}, Fabianny Gonçalves Carvalho¹, Donaldo Rosa Pires Jr².

1 - Graduação em Odontologia, Departamento de Odontologia, Faculdade de Ciências Biológicas e da Saúde, Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri, Diamantina, Minas Gerais, Brasil.

2 - Doutor em Microbiologia, Departamento de Odontologia, Faculdade de Ciências Biológicas e da Saúde, Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri, Diamantina, Minas Gerais, Brasil.

*Autor correspondente. Faculdade de Medicina do Vale do Aço, Rua João Patrício Araújo, N° 179, Veneza 1, Ipatinga/MG.

CEP: 35.164-251 ✉ fernandalimafernandes@outlook.com

RESUMO: O gênero *Staphylococcus* é parte da microbiota normal humana, e a apresenta elevada prevalência de multi resistência a antimicrobianos e antissépticos utilizados em hospitais e ambientes clínicos. O objetivo deste estudo foi investigar a susceptibilidade de amostras de *Staphylococcus sp.* frente a antimicrobianos em discos e diferentes antissépticos bucais comerciais *in vitro*. Os resultados mostraram acentuada resistência bacteriana a concentrações elevadas aos antissépticos, e foi observada elevada resistência bacteriana aos antimicrobianos. Os dados obtidos sugerem que os micro organismos utilizados neste estudo responderam de maneira diferenciada aos diferentes agentes utilizados como antissépticos na rotina clínica odontológica, sendo que, a maioria não foi eficaz nas concentrações testadas. A diversidade de produtos disponíveis e a susceptibilidade bacteriana exigem melhor fundamentação científica para o uso terapêutico.

Palavras chave: *Staphylococcus sp.*; antimicrobianos; antissépticos; resistência.

ABSTRACT (*Susceptibility Profile of clinical odontological isolates of Staphylococcus to antiseptics and antimicrobials*)

Staphylococcus is among the most important human pathogens and is part of the normal microbiota. Recent researches have shown great prevalence of multi resistance to antibiotics and antiseptics widely used in hospitals and clinical environments. The objective of this study was to investigate the susceptibility of bacterial samples of *Staphylococcus sp.* face to antibiotics and anti septic evaluated *in vitro*. The results showed sharp bacterial resistance to high concentrations of anti septic, as well as large number of bacterial resistance to antibiotics assessed, then showing that the indiscriminate use of anti septic and antibiotics may impinge on the effectiveness of these products for use in clinical treatment as well as generating a growing increase in bacterial resistance.

Keywords: *Staphylococcus sp.*; Antibiotics; Antiseptics; Resistance

Introdução

O aumento da incidência de doenças transmissíveis graves nas últimas décadas promoveu reflexões por profissionais e pacientes sobre os riscos de contaminação, e modificou os hábitos dos profissionais de saúde. As questões relativas ao controle de infecção e às normas de biossegurança passaram a ter novo significado, já que não eram vistas de forma tão crítica como atualmente¹.

Variadas espécies de bactérias têm mostrado uma alta prevalência de resistência a fármacos como antimicrobianos e antissépticos comumente utilizados em ambientes clínicos e comunitários⁴. Dentre estas bactérias, está o gênero *Staphylococcus*, que abrange importantes patógenos humanos.

Embora façam parte da microbiota normal humana⁵, bactérias do gênero podem causar uma ampla

variedade de infecções de caráter oportunista em seres humanos e animais. Entre as principais espécies de interesse clínico encontradas em seres humanos estão o *Staphylococcus aureus* e o *Staphylococcus epidermidis*. O *S. epidermidis* é encontrado primariamente como residente da pele, tendo um baixo potencial patogênico. São coagulase negativos e importantes integrantes da microbiota normal do homem, e nos últimos anos, têm emergido como agentes etiológicos de uma série de infecções⁶.

A elevada transferência de genes de resistência entre linhagens⁹ e o uso abusivo de drogas antimicrobianas têm sido fatores críticos para a seleção de amostras multirresistentes¹⁰. Diferentemente, o *S. aureus* pode ser encontrado na região da nasofaringe e também nas fossas nasais, entretanto, é classificado

como patógeno oportunista, podendo causar infecções graves quando penetra no organismo humano¹².

Os desinfetantes e antissépticos desempenham papel relevante no controle de infecções, atuando de forma a minimizar ou mesmo impedir a disseminação de micro organismos. Mas atualmente se discute a possível relação entre o uso de antissépticos como clorexidina e derivados de quaternário de amônio, e a seleção de bactérias resistentes a antimicrobianos. A pressão seletiva do uso de antimicrobianos exerce papel fundamental na magnitude e disseminação da resistência¹³. Controlar a dispersão de patógenos nos consultórios odontológicos e, conseqüentemente, evitar a infecção cruzada tem sido um dos grandes desafios para dentistas, pesquisadores e microbiologistas. Além do mais, ressalta-se que a falta de cuidado de alguns dentistas em relação à biossegurança tem propiciado a intensificação do ciclo de infecção cruzada¹⁴. A clínica odontológica é um ambiente exposto a riscos de infecção por patógenos tanto para pacientes quanto para o profissional, dessa forma, o exercício da profissão requer planejamento estratégico para reduzir a ocorrência de doenças infecto contagiosas^{16, 17, 19}.

Diante deste contexto, a proposta do presente estudo foi avaliar a susceptibilidade de isolados clínicos odontológicos do gênero *Staphylococcus* a antissépticos veiculados em diferentes formulações comerciais do tipo enxaguatório bucal e a antimicrobianos. Ensaio de concentração inibitória mínima foram realizados através de microdiluição em caldo com os enxaguatórios, e a sensibilidade aos antimicrobianos foi avaliada através de difusão em discos. Os resultados indicaram baixa susceptibilidade das cepas aos enxaguatórios e aos antimicrobianos, e tomados juntos, sugerem que o uso indiscriminado de antissépticos e de antimicrobianos pode interferir na efetividade do tratamento clínico e favorecer a resistência bacteriana.

Materiais e Métodos

Micro organismos

Neste estudo foram utilizados oito isolados clínicos obtidos de soluções reveladoras e filmes radiográficos odontológicos (Tabela 1) e duas amostras de referência: *Staphylococcus aureus* ATCC 13692 e *Staphylococcus epidermidis*, pertencentes à coleção de culturas do laboratório de Microbiologia do Departamento de Ciências Básicas/Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri, Diamantina, Minas Gerais.

Aliquotas de 100 µL de cada cepa foram cultivadas em ágar de sal e manitol e o espalhamento feito com auxílio da alça de Drigalski seguindo incubação em aerobiose a 35°C por 24 horas. Após análise do

resultado da fermentação, cepas de cada colônia, obtidas após a incubação, foram submetidas ao método da coloração de Gram e ao teste da catalase, conforme descrito²¹ para confirmação do gênero *Staphylococcus*. Todas as cepas foram mantidas a 20 °C, em meio de conservação à base de sais minerais e glicerina ou por cultivo em ágar BHI. Para a realização dos experimentos as cepas foram cultivadas em caldo BHI, com incubação em aerobiose a 35±2 °C por 12 horas.

Enxaguatórios bucais

Os antissépticos bucais Periogard® (Colgate Palmolive, Brasil), Listerine® (Johnson & Johnson, E.U.A.), Plax® (Colgate Palmolive, Brasil), Sanifill® (Sanifill, Brasil) e Cepacol® (Reckitt Benckiser, Reino Unido) foram adquiridos em estabelecimentos locais e utilizados no ensaio *in vitro*. A composição das formulações está descrita na Tabela 2.

Avaliação da Concentração inibitória Mínima (CIM) das Amostras em relação aos Antissépticos

As cepas foram semeadas em caldo BHI a 35±2 °C durante 12 horas. A seguir, foram feitas microdiluições seriadas dos antissépticos para a determinação da concentração inibitória mínima (CIM). Esses antissépticos foram avaliados individualmente em diversas concentrações, calculadas com base na composição química de cada princípio ativo, conforme descrito pelo fabricante. A leitura dos resultados foi feita após 24 e 48 horas de incubação. Como controle, foram utilizados apenas meios sólidos acrescidos de diluente. A CIM foi considerada como a concentração na qual não se pode detectar qualquer crescimento da cepa. Para cada condição foram realizados, no mínimo, dois experimentos independentes em duplicata.

Teste de Susceptibilidade a Antimicrobianos em Discos

A susceptibilidade aos agentes antimicrobianos foi feita pelo teste de difusão em ágar pelo sistema de discos (Bauer *et al.*, 1966). Os discos antimicrobianos utilizados (Sensibiodisc, CECON, Brasil) foram: Tetraciclina (30 µg), Gentamicina (10 µg), Oxacilina (1 µg), Ciprofloxacina (5 µg), Clindamicina (2 µg), Penicilina G (10 UI), Estreptomicina (10 µg), Sulfonamida (300 µg), Eritromicina (15 µg) e Clorafenicol (30 µg). Os diâmetros dos halos de inibição foram interpretados de acordo com os critérios de interpretação preconizados pelo CLSI (2010)²².

CEPAS	ORIGEM
07 - <i>Staphylococcus epidermidis</i>	Laboratório de microbiologia
08 - <i>S. aureus</i> ATCC-13692	Laboratório de microbiologia
09 - TSA CPC-26/08	Filmes radiográficos submetidos à desinfecção com CPC*
12 - TSA CPC-26/08	Filmes radiográficos submetidos à desinfecção com CPC*
15 - TSA RV-19/08	Solução Reveladora dos Filmes Radiográficos
18 - TSA CPC-21/05	Filmes radiográficos submetidos à desinfecção com CPC*
19 - TSA C1-09/05	Filmes da clínica Integrada
24 - TSA AG2-30/05	Água de lavagem

Tabela 1 - Caracterização das amostras quanto ao nome, número e origem.

CPC: Cloreto de Cetilpiridínio

PRODUTO	COMPOSIÇÃO
PERIOGARD®	Gluconato de clorexidina a 0,12% ou digluconato formulado para passar em base livre de clorexidina na concentração 0,067%; água; glicerina, etanol; polisorbato 20; sacarinato de sódio FD e C Blus nº1; nome do gluconato de sódio Bis hexametilano (SP clorofenil biguanídeo).
LISTERINE®	Timol 0,064%, eucaliptol 0,092%, salicilato de metila 0,06% e mentol 0,042%. Excipiente: água purificada, solução de sorbitol, álcool 21,6%, poloxamer 407, ácido benzóico, sacarina sódica, cloreto de zinco, aroma de menta, benzoato de sódio N propanol e corante FD&C azul #1.
PLAX®	Triclosan (0,03%), fluoreto de sódio (277 ppm de flúor) e copolímero PVM/MA (0,20%) "Gantriz", álcool etílico, fosfato dissódico, água, glicerina, sorbitol, sacarina sódica, metil taurado de sódio, lauril sulfato de sódio, hidróxido de sódio, corantes: azul CI 42090 e composição aromática. Contém fluoreto de sódio.
SANIFILL®	Fluoreto de sódio 0,05% (223 ppm em íon Fluoreto), Sorbitol 70%, Metil Parabeno, Triclosan, Cloreto de Cetilpiridínio, Scarina sódica, Láuril sulfato de sódio, Etanol, Aroma de menta, CI 42090, CI 19140, Água deionizada.
CEPACOL®	Cloreto de cetilpiridínio 0,500mg; Fluoreto de sódio 226 ppm de flúor; 0,1mg de menta em veículo tamponado.

Tabela 2 - Antissépticos comerciais avaliados quanto à atividade antimicrobiana *in vitro*

Resultados

Inicialmente, a atividade antimicrobiana dos antissépticos para as diferentes *cepas* de *Staphylococcus* foi avaliada em meio líquido para determinação da concentração inibitória mínima (CIM). Variações nos valores de CIM foram observadas entre as diferentes *cepas* microbianas para um mesmo princípio ativo, e entre os diferentes princípios ativos para uma mesma *cepa* microbiana. As Tabelas 3 e 4 mostram os resultados obtidos com cada um dos princípios ativos (antissépticos), frente a oito isolados do gênero *Staphylococcus*.

Em relação à clorexidina, cujos resultados estão apresentados na Tabela 4, observa-se que os menores valores de CIM (24 e 48 µg/mL) foram obtidos para as *cepas* *S. aureus* 12, S. RV 15 e *S. aureus* 18. Para *cepa* de *S. epidermidis* esta faixa de CIM ficou entre 80 e 85 µg/mL. As *cepas* de *S. aureus* ATCC e S. AG2 24 apresentaram a faixa de CIM entre 95 e 120

µg/mL. Já a *cepa* S. C1 19 apresentou resistência até a concentração de 160 µg/mL, que foi a maior concentração avaliada.

Os resultados para o cloreto de cetilpiridínio estão apresentados na Tabela 3. Os menores valores de CIM foram de 3 a 10 µg/mL, para a *cepa* *S. aureus* 12. Já para as *cepas* de *S. epidermidis*, de *S. aureus* ATCC e S. C1 19 essa faixa ficou entre 10 e 20 µg/mL e o maior valor para as *cepas* *S. aureus* 9 e S. RV 15 (25 a 30 µg/mL). As *cepas* *S. aureus* 18 e S. AG2 24 apresentaram resistência a esse agente antimicrobiano até a última concentração testada que foi de 30 µg/mL.

CEPA	Concentrações (µg/mL) Cepacol						
	1	2	3	10	20	25	30
<i>S. epidermidis</i> -7	+	+	+	+	+	+	+
<i>S. aureus</i> -8	+	+	+	+	+	+	+
<i>S. aureus</i> -9	+	+	+	+	-	-	-
<i>S. aureus</i> -12	+	+	+	+	+	+	+
<i>S. aureus</i> -15	+	+	+	-	-	-	+
<i>S. aureus</i> -18	+	+	+	-	-	-	-
<i>S. aureus</i> -19	+	+	+	-	+	+	+
<i>S. aureus</i> -24	+	+	+	-	-	-	-

Tabela 3.1

CEPA	Concentrações (µg/mL) Sanifill							
	1	2	3	4	5	10	20	30
<i>S. epidermidis</i> -7	+	-	-	-	-	-	-	-
<i>S. aureus</i> -8	+	-	-	-	-	-	-	-
<i>S. aureus</i> -9	+	+	-	-	-	-	-	-
<i>S. aureus</i> -12	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>S. aureus</i> -15	+	+	-	-	-	-	-	-
<i>S. aureus</i> -18	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>S. aureus</i> -19	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>S. aureus</i> -24	-	-	-	-	-	-	-	-

Tabela-3.2

CEPA	Concentrações (µg/mL) Listerine								
	10	20	25	30	35	45	50	55	60
<i>S. epidermidis</i> -7	+	+	+	+	-	-	-	-	-
<i>S. aureus</i> -8	+	+	+	+	+	+	+	+	-
<i>S. aureus</i> -9	+	+	+	+	-	-	-	-	-
<i>S. aureus</i> -12	+	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>S. aureus</i> -15	+	+	+	+	-	-	-	-	-
<i>S. aureus</i> -18	+	+	+	+	-	-	-	-	-
<i>S. aureus</i> -19	+	+	+	+	-	-	-	-	-
<i>S. aureus</i> -24	+	-	-	-	-	-	-	-	-

Tabela 3.3

Conjunto de Tabelas 3 - Atividade *in vitro* (µg/mL) dos agentes antimicrobianos dos enxaguatórios bucais. Sinais (+) e (-) indicam eficácia e ineficácia da concentração do antisséptico em questão.

CEPA	Concentrações (µg/mL) Periogard												
	6	12	18	24	48	60	80	85	90	95	120	140	160
<i>S. epidermidis</i> 7	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-
<i>S. aureus</i> 8	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-
<i>S. aureus</i> 9	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-
<i>S. aureus</i> 12	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>S. aureus</i> 15	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>S. aureus</i> 18	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>S. aureus</i> 19	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>S. aureus</i> 24	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-

Tabela 4.1

CEPA	Concentrações (µg/mL) Plax													
	4	6	8	12	16	18	24	30	40	50	60	70	80	90
<i>S. epidermidis</i> 7	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>S. aureus</i> 8	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>S. aureus</i> 9	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>S. aureus</i> 12	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>S. aureus</i> 15	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>S. aureus</i> 18	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>S. aureus</i> 19	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>S. aureus</i> 24	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Tabela 4.2

Conjunto de Tabelas 4 - Atividade *in vitro* (µg/mL) dos agentes antimicrobianos dos enxaguatórios bucais (continuação).

Sinais (+) e (-) indicam eficácia e ineficácia da concentração do antisséptico em questão.

CEPA	Clorexidina	CPC	Triclosan	Timol	Triclosan/CPC/Própolis
<i>S. epidermidis</i> 7	80 85	10 →20		30 35	1 →2
<i>S. aureus</i> 8	95 120	10 →20	4.6	55 60	1 →2
<i>S. aureus</i> 9	80 85	25 →30		30 35	2 →3
<i>S. aureus</i> 12	24 48	3 →10	6 →8	10 →20	1
<i>S. aureus</i> 15	24 48	20 →25		30 35	2 →3
<i>S. aureus</i> 18	24 48		6 →8	30 35	1
<i>S. aureus</i> 19		10 →20	4	25 30	1
<i>S. aureus</i> 24	95 120		8 →12	10 →20	1

Tabela 5 - Concentração inibitória mínima da Clorexidina, Cloreto de cetilpiridínio, Triclosan, Timol e Própolis. CPC: Cloreto de Cetilpiridínio

CEPA	TT 30 µg	GEN 10µg	OXA 1µg	CIP 5µg	CL 2µg	PN 10UI	ER 10 µg	SF 300 µg	EI 15 µg	CO 30 µg
<i>S. epidermidis</i> 7	30 (s)	13 (i)	8 (r)	24 (s)	22 (s)	10 (r)	12 (i)	9 (r)	23 (s)	26 (s)
<i>S. aureus</i> 8	28 (s)	9 (r)	17 (s)	24 (s)	25 (s)	40 (s)	12 (i)	19 (s)	22 (s)	24 (s)
<i>S. aureus</i> 9	22 (s)	12 (r)	20 (s)	24 (s)	22 (s)	18 (r)	11 (r)	8 (r)	10 (r)	25 (s)
<i>S. aureus</i> 12	11 (r)	3 (r)	8 (r)	21 (s)	11 (r)	19 (r)	4 (r)	10 (r)	9 (r)	9 (r)
<i>S. aureus</i> 15	30 (s)	12 (r)	23 (s)	22 (s)	23 (s)	16 (r)	12 (i)	9 (r)	23 (s)	23 (s)
<i>S. aureus</i> 18	22 (s)	10 (r)	20 (s)	11 (r)	22 (s)	33 (s)	10 (r)	10 (r)	22 (s)	12 (r)
<i>S. aureus</i> 19	24 (s)	13 (i)	7 (r)	22 (s)	14 (r)	19 (s)	18 (s)	8 (r)	22 (s)	22 (s)
<i>S. aureus</i> 24	2 (r)	3 (r)	6 (r)	19 (i)	13 (r)	12 (r)	4 (r)	9 (r)	1 (r)	4 (r)

Tabela 6 - Medidas dos halos e interpretação das zonas de inibição de antibiogramas de acordo com WHO*, medidas em mm. (r) Amostra resistente ao antimicrobiano. (s) Cepa susceptível ao antimicrobiano. (i) cepa intermediariamente susceptível ao antimicrobiano. TT: Tetraciclina, GEN: Gentamicina, OXA: Oxaciclina, CIP: Ciprofloxacina, CL: Clindamicina, PN: Penicilina, ET: Estreptomicina, SF: Sulfonamida, ER: Eritromicina e CO: Cloranfenicol.

As variações dos valores de CIM do agente antimicrobiano Triclosan estão apresentadas na Tabela 4. A primeira concentração testada foi de 4 µg/mL que inibiu somente a *cepa* S. C1 19. Entre a faixa de 4 a 6 µg/mL ocorreu inibição do crescimento da *cepa* *S. aureus* ATCC. As *cepas* *S. aureus* 12 e *S. aureus* 18 foram inibidas entre 6 e 8 µg/mL. A última *cepa* a ter o seu crescimento inibido foi a S. AG2 24 (8 a 12 µg/mL). A última concentração testada foi de 90 µg/mL, que não foi suficiente para inibir o crescimento das *cepas* *S. epidermidis*, *S. aureus* 9 e S. RV 15.

O timol, princípio ativo do enxaguatório Listerine®, apresentou a menor faixa de CIM (10 20 µg/mL, Tabela 3.) no qual inibiu o crescimento das *cepas* *S. aureus* 12 e S. AG2 24. Entre a faixa de 25 a 30 µg/mL ocorreu inibição da *cepa* S. C1 19 e entre 30 e 35 µg/mL houve inibição das *cepas* *S. epidermidis*, *S. aureus* 9, S. RV 15 e *S. aureus* 18. A última CIM foi entre 55 a 60 µg/mL que inibiu a *cepa* *S. aureus* ATCC.

Sanifill®, que apresenta como princípio ativo a associação de cloreto de cetilpiridínio, triclosan e própolis, foi capaz de inibir o crescimento das *cepas* *S. aureus* 12, *S. aureus* 18, S. C1 19 e S. AG2 24 e entre a faixa de 1 a 2 µg/mL as *cepas* *S. epidermidis* e *S. aureus* ATCC. As *cepas* que apresentaram maior resistência foram a *S. aureus* 9 e a S. RV 15 que foram inibidas na faixa de CIM de 2 a 3 µg/mL.

A Tabela 5 apresenta as faixas de CIM encontradas para cada amostra bacteriana, frente aos diferentes antissépticos. A *cepa* 8 corresponde ao *S. aureus* ATCC 13692 (*cepa* controle), sob a ação da clorexidina apresentou CIM de 100 µg/mL. Já quando utilizado cloreto de cetilpiridínio a CIM foi de 15 µg/mL. Com o triclosan seu crescimento foi inibido na concentração de 5 µg/mL, com o timol a 55 µg/mL. Já com o Sanifill® a CIM foi de 1 µg/mL.

A *cepa* *S. aureus* 12 apresentou CIM de 36 µg/mL quando foi utilizado o agente antimicrobiano clorexidina. Quando submetida à ação do cloreto de cetilpiridínio a CIM foi de 7 µg/mL. Já quando utilizado o triclosan essa inibição ocorreu na concentração de 7 µg/mL. No timol a inibição foi na concentração de 15 µg/mL. A associação de triclosan, cloreto de cetilpiridínio e própolis inibiu essa *cepa* na concentração de 1 µg/mL.

A amostra S. RV 15, apresentou CIM quando utilizada a clorexidina 36 µg/mL. Quando utilizado cloreto de cetilpiridínio a CIM foi de 30 µg/mL. Com o triclosan seu crescimento não foi inibido até a última concentração avaliada que foi de 90 µg/mL. Com o timol a CIM foi de 35 µg/mL. Já com o Sanifill® está inibição ocorreu na concentração de 3 µg/mL.

Com a mesma origem das amostras *S. aureus* 9 e *S. aureus* 12, a amostra *S. aureus* 18 sob a ação da clorexidina apresentou CIM de 36 µg/mL. Já quando utilizado o cloreto de cetilpiridínio até a concentração de 30 µg/mL essa amostra não teve seu crescimento inibido. Com o triclosan seu crescimento foi inibido na concentração de 7 µg/mL, com o timol a CIM foi de 35 µg/mL. Já com o Sanifill® a CIM foi de 1 µg/mL.

A amostra S. C1 19 apresentou resistência ao agente antimicrobiano clorexidina até a última concentração avaliada que foi de 160 µg/mL. Quando submetida à ação do cloreto de cetilpiridínio a CIM foi de 15 µg/mL. Já com o triclosan, a CIM foi de 4 µg/mL. No timol a inibição ocorreu na concentração de 30 µg/mL. A associação de triclosan. A formulação com cloreto de cetilpiridínio e própolis inibiu esta *cepa* com a concentração de 1 µg/mL.

A amostra S. AG2 24 apresentou CIM de 110 µg/mL quando foi utilizado o agente antimicrobiano clorexidina. Quando submetida à ação do cloreto de cetilpiridínio, apresentou resistência até a última concentração avaliada que foi de 30 µg/mL. Já quando utilizado o triclosan a CIM foi de 10 µg/mL. No timol a faixa de inibição ocorreu na concentração de 15 µg/mL. A associação de triclosan. A formulação contendo cloreto de cetilpiridínio e própolis inibiu esta *cepa* na concentração de 1 µg/mL.

Para avaliar a eficácia dos antimicrobianos citados, e tendo como objetivo saber se tais amostras de *Staphylococcus* também demonstraram variações nos perfis de susceptibilidade a estes fármacos, foram realizados antibiogramas. Os resultados estão apresentados na Tabela 6.

Sob ação da tetraciclina 30 µg (TT), a amostra de *S. epidermidis* apresentou um halo de 30 mm, a *S. aureus* ATCC de 28 mm, a *S. aureus* 9 de 22 mm, a S. RV 15 de 30 mm, a *S. aureus* 18 de 22 mm e a S. C1 19 de 24 mm sendo todas essas amostras classificadas como susceptíveis a ação da tetraciclina. Já a amostra *S. aureus* 12 apresentou um halo de inibição de 11 mm e amostra S. AG2 24 de 2 mm sendo, então, classificadas como resistentes.

Em relação à gentamicina (10 µg GEN), nenhuma amostra foi classificada como susceptível a esse antimicrobiano. Já as amostras *S. epidermidis* e S. C1 19 foram classificadas como intermediariamente susceptíveis tendo seus halos medindo 13 mm cada. A amostra *S. aureus* ATCC apresentou um halo de inibição de 9 mm. Para a amostra *S. aureus* 9, a formação de halo de 12 mm, a *S. aureus* 12 de 3 mm, a S. RV 15 de 12 mm, a *S. aureus* 18 de, 10 mm e a S. AG2 24 de 3 mm, sendo todas essas amostras classificadas como resistentes a gentamicina.

As amostras *S. epidermidis*, *S. aureus* 12, S. C1 19 e S. AG2 24 foram classificadas como resistentes a ação da oxacilina tendo halos medindo respectivamente 8 mm, 8 mm, 7 mm e 6 mm. Já as amostras *S. aureus* ATCC, *S. aureus* 9, S. RV 15 e *S. aureus* 18 foram classificadas como susceptíveis a esse fármaco, apresentando halos medindo os seguintes diâmetros 17 mm, 20 mm, 23 mm e 20 mm.

Somente a amostra *S. aureus* 18 foi resistente à ciprofloxacina, apresentando um halo de 11 mm. A amostra S. AG2 24 foi a única classificada como intermediária com um halo de 19 mm. As demais amostras foram classificadas como susceptíveis, tendo a amostra *S. epidermidis*, *S. aureus* ATCC e *S. aureus* 9 apresentado

halos de 24 mm, a amostra *S. aureus* 12 um halo de 21 mm, e as amostras S. RV 15 e S. C1 19 formando cada uma halos de 22 mm.

Os resultados para clindamicina foram: as amostras *S. aureus* 12, S. C1 19 e S. AG2 24 apresentaram se resistentes com halos medindo respectivamente 11 mm, 14 mm e 13 mm. Já as amostras *S. epidermidis*, *S. aureus* ATCC, *S. aureus* 9, S. RV 15 e *S. aureus* 18 foram classificadas como susceptíveis formando halos de 22 mm, 25 mm, 22 mm, 23 mm e 22 mm.

As amostras *S. epidermidis*, *S. aureus* 9, *S. aureus* 12, S. RV 15, S. C1 19 e S. AG2 24 são resistentes à penicilina, uma vez que formaram halos medindo 10 mm, 18 mm, 19 mm, 16 mm, 19 mm e 12 mm.

As amostras *S. aureus* 9, *S. aureus* 12, *S. aureus* 18 e AG2 24 foram classificadas como resistentes à estreptomicina por apresentarem halos de 11 mm, 4 mm, 10 mm e 4 mm. As bactérias classificadas como intermediárias para esse fármaco foram a *S. epidermidis*, *S. aureus* ATCC e a S. RV 15 medindo cada uma 12 mm. A única amostra susceptível foi a S. C1 19 com halo medindo 18 mm. A única amostra susceptível a esse fármaco foi a do *S. aureus* ATCC apresentando halo de inibição de 19 mm. Todas as demais foram classificadas como resistentes, a amostra de *S. epidermidis* apresentou halo de inibição de 9 mm, a *S. aureus* 9 de 8 mm, a *S. aureus* 12 de 10 mm, a S. RV 15 de 9 mm, a *S. aureus* 18 de 10 mm, a S. C1 19 de 8 mm e a S. AG2 24 de 9 mm.

Somente as amostras *S. aureus* 9, *S. aureus* 12 e *S. aureus* 24 foram resistentes à eritromicina com halos medindo 10 mm, 9 mm e 1 mm. Já as amostras *S. epidermidis*, *S. aureus* ATCC, S. RV 15, *S. aureus* 18 e a S. C1 19 foram classificadas como susceptíveis por apresentarem halos medindo respectivamente 23 mm, 22 mm, 23 mm, 22 mm e 22 mm.

Três amostras foram classificadas como resistentes ao cloranfenicol: *S. aureus* 12 (halo = 9 mm), a *S. aureus* 18 (halo = 12 mm) e a *S. aureus* 24 com halo medindo 4 mm. As amostras *S. epidermidis*, *S. aureus* ATCC, *S. aureus* 9, S. RV 15 e S. C1 19 são ditas susceptíveis uma vez que apresentaram halos medindo 26 mm, 24 mm, 25 mm, 23 mm e 22 mm respectivamente.

De modo esquemático, a Tabela 6 apresenta também os resultados do antibiograma de cada antimicrobiano para cada amostra bacteriana, sendo estas classificadas como resistentes, intermediárias e susceptíveis.

A amostra de *S. epidermidis* foi resistente aos antimicrobianos: oxacilina, sulfonamida e penicilina. Apresentou susceptibilidade à ciprofloxacina, tetraciclina, clindamicina, eritromicina e clorafenicol. Suscetibilidade intermediária foi apresentada frente à gentamicina e estreptomicina.

Em relação à amostra *S. aureus* 9, esta foi resistente aos antimicrobianos sulfonamida, penicilina, gentamicina, estreptomicina e eritromicina e susceptível à

oxacilina, ciprofloxacina, tetraciclina, clindamicina e clorafenicol.

A amostra S. RV 15 apresentou resistência à sulfonamida, penicilina e gentamicina. Suscetibilidade intermediária à estreptomicina e susceptibilidade à oxacilina, ciprofloxacina, tetraciclina, clindamicina, eritromicina e clorafenicol.

Quanto à amostra *S. aureus* 18, a resistência manteve-se frente aos antimicrobianos ciprofloxacina, sulfonamida, gentamicina, estreptomicina e clorafenicol, sendo susceptível à oxacilina, tetraciclina, penicilina, clindamicina e eritromicina.

A amostra S. C1 19 foi resistente aos antimicrobianos oxacilina, sulfonamida e clindamicina. Apresentou susceptibilidade intermediária à gentamicina e foi susceptível à ciprofloxacina, tetraciclina, penicilina, estreptomicina, eritromicina e clorafenicol.

DISCUSSÃO

O agente antimicrobiano clorexidina, conhecido pela capacidade de redução do biofilme placa bacteriana e gengivite, teve neste estudo sua capacidade microbicida avaliada. No produto comercial Periogard®, a clorexidina está presente na concentração de 0,12%. De acordo com os resultados encontrados, essa concentração não foi capaz de inibir o crescimento de nenhuma amostra testada. Essa inibição só começou a ocorrer na concentração de 48 µg/mL, sendo esta, três vezes maior que a estabelecida pelo fabricante. Resultados obtidos neste estudo estão de acordo com Estrela (2000)²⁴ que demonstrou que a solução de Clorexidina a 1% foi mais eficaz que a mesma solução a 0,5% e a 0,12%, variando de acordo com fatores como concentração e tempo de contato.

Outro princípio ativo avaliado *in vitro* foi o cloreto de cetilpiridínio, presente no antisséptico Cepacol® na concentração de 0,05%. Nos testes realizados, começou a inibir as amostras na concentração de 10 µg/mL. Sabe-se que na concentração de 20 µg/mL, foi capaz de inibir 50% das amostras utilizadas. Não sendo capaz de inibir todas as amostras até a concentração de 30 µg/mL.

Utilizando antisséptico Listerine®, cujo princípio ativo é o timol, um óleo essencial na concentração de 0,064%, quando testado sobre as amostras de *Staphylococcus*, foi incapaz de inibir o crescimento bacteriano das mesmas. Ao aumentar essa concentração para 20 µg/mL, foi capaz de inibir o crescimento de somente 25% das amostras. Somente na concentração de 60 µg/mL foi eficiente na inibição de 100% das amostras.

Ao avaliar o Triclosan 0,03%, princípio ativo do antisséptico Plax®, foi eficaz somente na concentração de 24 µg/mL inibindo o crescimento de 62% das amostras. Tal princípio ativo foi avaliado até a concentração de 90 µg/mL mantendo o mesmo índice de inibição. O último antisséptico a ser avaliado foi o Sanifill®, sendo seus princípios ativos a associação de Triclosan, cloreto de cetilpiridínio e própolis, foi bastante eficaz. Já na concentração de 1 µg/mL foi eficaz na inibição do

crescimento de 50% das amostras avaliadas. Na concentração de 3 µg/mL foi eficiente em 100%.

Com intuito de avaliar a resistência cruzada entre antissépticos e antimicrobianos, foi realizado antibiograma com alguns antimicrobianos amplamente utilizados. A penicilina 10 UI, antimicrobiano do grupo dos β-lactâmicos, trata-se de um dos antimicrobianos mais utilizados. Quando testada, em forma de antibiograma nestes estudos apresentou resistência de 62,5% das amostras.

A oxacilina 1µg, outro antimicrobiano do grupo dos betalactâmicos, apresentou 50% de resistência nas amostras avaliadas. Em um estudo²⁵, a taxa de resistência à oxacilina, considerando os resultados obtidos pelos testes de diluição em Agar, foi de 40,54%. De acordo com o antibiograma realizado, 90% das amostras apresentaram resistência ao antimicrobiano sulfonamida 300µg. Comparando com outros estudos, quando a sulfonamida está em associação ao Trimetopim, essa resistência tende a ser mais baixa. Segundo um estudo realizado por Vilela (2004)²⁶, 73% das amostras de MRSA foram resistentes a esse fármaco. Em 2006, Santos²⁵, em um estudo com 38 amostras de *Staphylococcus sp.* observou 60% de resistência a esse antimicrobiano.

A tetraciclina apresentou susceptibilidade de 75% das bactérias, mostrando-se um fármaco bastante eficaz para *Staphylococcus*. Aspis et al. (2003)²⁷ relataram susceptibilidade de 87,5% de amostras de *Staphylococcus aureus* quando submetidas ao antibiograma com tetraciclina 30µg. A gentamicina 10 µg e a estreptomicina 10 µg, antimicrobianos do grupo dos aminoglicosídeos, foram incapazes de inibir o crescimento das amostras testadas neste estudo com percentual entre 75 e 50%, respectivamente.

A ciprofloxacina 5 µg, representante do grupo das quinolonas, apresentou neste estudo susceptibilidade em 87% das amostras, sendo só 1 das amostras resistente a esse fármaco, o que condiz com o resultado apresentado por Motta Neto et al., (2003)²⁸ que avaliou o percentual de resistência a antimicrobianos de 61 cepas de *Staphylococcus aureus*. Sendo apenas 8,2% dessas resistentes e também com o estudo apresentado por Souza Júnior e Fernandez (2004)²⁹ que avaliaram o perfil de susceptibilidade das bactérias isoladas de uroculturas de pacientes atendidos no LABAC APAE SSA em relação a ciprofloxacina, sendo 87,86% desses micro organismos sensíveis a esse fármaco.

A clindamicina foi capaz de inibir o crescimento de 63,5% das amostras bacterianas, resultado semelhante ao apresentado por Vilela (2004)²⁶ que avaliou a resistência de micro organismos isolados em um hospital no período de julho de 2002 a junho de 2003, onde 46,2% de *S. aureus* e 58,5% de *Staphylococcus* coagulase negativa apresentaram-se resistentes. Em outro estudo, realizado por Navascués et al., (2007)³⁰ utilizando 78 amostras de MRSA (*Staphylococcus aureus* metilicina resistente), 42,3% desses micro organismos foram resistentes à ação da clindamicina.

As amostras utilizadas neste estudo apresentaram 63,5 % de susceptibilidade a eritromicina na concentração de 15 µg. O cloranfenicol na concentração de 30 µg foi capaz de inibir 37,5% das amostras testadas. De acordo com Santos (2006)²⁵, a resistência dos *Staphylococcus* ao cloranfenicol foi considerada baixa, com somente 2,70% das amostras resistentes.

CONCLUSÃO

Com base nos resultados obtidos nesse estudo, pode-se concluir que os micro organismos utilizados neste estudo responderam de maneira diferenciada aos diferentes agentes utilizados como antissépticos na rotina clínica odontológica, sendo que, a maioria dos enxagatatórios utilizados na rotina clínica não foi eficaz nas concentrações testadas, e um alto nível de resistência aos antimicrobianos testados foi detectado. A diversidade de produtos disponíveis e a susceptibilidade bacteriana exigem melhor fundamentação científica para o uso terapêutico.

REFERÊNCIAS

- 1- Alves MCR, Lorenzato F. Avaliação dos procedimentos de prevenção dos riscos biológicos por cirurgiões dentistas. Rev Assoc Paul Cir Dent 2000. (54):446-54.
- 2- Cunha BA. Antibiotic resistance. Drugs of Today 34:691-698, 1998.
- 3- Carney DN et al. Bacteremia due to *Staphylococcus aureus* in patients with cancer: report on 45 cases and a review of the literature. Rev. Infect. Dis., Chicago, v. 4, n. 1, p. 1-12, 1985.
- 4- Kloos WE, Bannerman TL. *Staphylococcus* and *Micrococcus*. In: *Manual of Clinical Microbiology*. Murray PR, Baron, EJ, Pfaller, MA, Tenover, F.C., Tenover, R.H., (Eds.), 282-298. ASM press, ISBN 13: 978 1555811266, Washington DC, 1995.
- 5- Marshall SA et al. *Staphylococcus aureus* and coagulase negative staphylococci from blood stream infections: frequency of occurrence, antimicrobial susceptibility, and molecular (*mecA*) characterization of oxacillin resistance in the SCOPE program. *Diagn. Microbiol. Infect. Dis.*, 30: 205-214, 1998.
- 6- McDonnell RW, Sweeney HM e Cohen S. Conjugational transfer of gentamicin resistance plasmids intra and interspecifically in *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus epidermidis*. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 23: 151-160, 1983.

- 7- Jones R et al. Triclosan: a review of effectiveness and safety in health care settings. *Am J Infect Control*, v.28, n. 2, p. 184-96, 2000.
- 8- Sneath PHA, Mair NS, Sharpe ME, Holt JG. *Bergey's manual of systematic bacteriology*, Vol. 2. William and Wilkins, Baltimore, USA, 1986.
- 9- Russell JB, Strobel HJ, Chen G. The enrichment and isolation of a ruminal bacterium with a very high specific activity of ammonia production. *Applied and Environmental Microbiology*, v.54, p.872-877, 1988.
- 10- Machado GL, Kather JM. Estudo do Controle da infecção cruzada utilizada pelos cirurgiões dentistas de Taubaté. Departamento de Odontologia da Universidade de Taubaté, Taubaté, p.8, 2001.
- 11- Miller CH. Infection control. *Dent Clin North Am* 1996; Apr, 40:437-518.
- 12- Ministério da Saúde Secretaria de Políticas de Saúde. Coordenação Nacional de DST e AIDS. Controle de infecção e a prática odontológica em tempos de Aids 2000:1-45.
- 13- Tullner JB, Zeller G, Hartwell GA, Burton J. A practical barrier technique for infection control in dental radiology. *Compend Contin Educ Dent* 1992 Nov; 13(11):1054-56.
- 14- Moreira MPSS. Avaliação da contaminação dos filmes radiográficos e soluções reveladoras da Clínica de Radiologia do Departamento de Odontologia da UFVJM. Monografia (Graduação em Odontologia). Faculdade de Ciências da Saúde, Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri, Diamantina, 2005.
- 15- Silva N, Junqueira VCA, Silveira NFA. Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos. São Paulo: Varela, 2001.
- 16- CLSI Clinical Laboratory Standards Institute. *Performance standards for antimicrobial susceptibility testing: M100 S20*. Clinical Laboratory Standards Institute, Wayne, P.A, 2010.
- 17- World Health Organization Scientific Group. Antimicrobial Resistance. *Bulletin of World Health Organization* 61:383-394, 1983.
- 18- Estrela CRA. Eficácia antimicrobiana de soluções irrigadoras de canais radiculares. Goiânia: 2000. 38p. [Dissertação (Mestrado) Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública Univ. Fed. de Goiás].
- 19- Santos CDM, *Staphylococcus* sp e enterobactérias isoladas de mastite recorrente em oito rebanhos da região de Uberlândia MG: perfil de suscetibilidade aos antimicrobianos. 54f. (Mestrado em Ciências Veterinárias) Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Federal de Uberlândia, 2006.
- 20- Vilela MA. Perfil de resistência antimicrobiana de isolados em casos de infecções nosocomiais em Recife, Pernambuco, Brasil. 56f. (Mestrado em Saúde Pública) Departamento de Saúde Coletiva NESC do Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães CPqAM, Fundação Oswaldo Cruz FIOCRUZ/MS, 2004.
- 21- Aspis D, Baldassi L, Germano PML, Fedullo JDL, Passos EC, Gonçalves MA. Suscetibilidade *in vitro* a antibióticos de cepas de *Staphylococcus* spp e *Micrococcus* spp isoladas a partir de mucosa oral de macacos-pregos (*Cebus apella*) mantidos em cativeiro. *Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science* (2003) 40 (supl): 83-89.
- 22- Motta Neto R, Carvalho CBM, DIAS AM, Oliveira MM, Câmara LMC. Pé diabético: Epidemiologia da Resistência a Antimicrobianos de 61 cepas de *Staphylococcus aureus* Isoladas de 141 Pacientes Ambulatoriais Curitiba PR RBAC. vol. 37(3): 149-152, 2005.
- 23- Sousa Junior MA, Fernandez LG. Perfil de Suscetibilidade aos Antimicrobianos mais Comercializados para o Tratamento de Infecções do Trato Urinário no Ano de 2003 em Salvador BA. *NewsLab* Ed.67, 2004.
- 24- Navascues A, Garcia Irure JJ, Guillen F. Situación de *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina en el Hospital de Navarra (2000-2002). *Anales Sis San Navarra, Pamplona*, 27 (1): 2004.